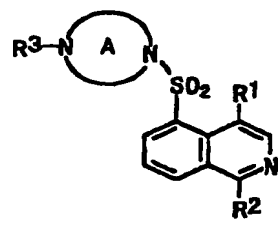




PCT

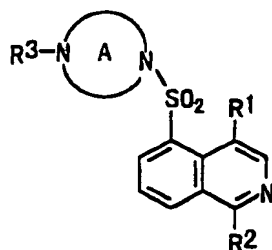
特許協力条約に基づいて公開された国際出願

| | | |
|---|-----------|---|
| <p>(51) 国際特許分類6 A61K 31/55 // C07D 401/12</p> | <p>A1</p> | <p>(11) 国際公開番号 WO99/64011</p> <p>(43) 国際公開日 1999年12月16日(16.12.99)</p> |
| <p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/03137</p> <p>(22) 国際出願日 1999年6月11日(11.06.99)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平10/163223 1998年6月11日(11.06.98) JP</p> <p>(71) 出願人; および (72) 発明者 日高弘義(HIDAKA, Hiroyoshi)[JP/JP] 〒468-0063 愛知県名古屋市中天白区音聞山607番地 Aichi, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 高木 学(TAKAGI, Manabu)[JP/JP] 〒617-0826 京都府長岡京市開田1丁目8番17号 Kyoto, (JP) 松崎卓士(MATSUZAKI, Takushi)[JP/JP] 〒617-0828 京都府長岡京市馬場1丁目5番20号 Kyoto, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 清水尚人(SHIMIZU, Naoto) 〒601-8550 京都府京都市南区吉祥院西ノ庄門口町14番地 日本新薬株式会社内 Kyoto, (JP)</p> | | <p>(81) 指定国 CA, CN, KR, MX, RU, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p> |
| <p>(54) Title: DRUGS</p> <p>(54) 発明の名称 医薬</p> <div style="text-align: center;">  <p>(I)</p> </div> <p>(57) Abstract</p> <p>Preventive or therapeutic agents for asthma containing as the active ingredient isoquinoline derivatives represented by general formula (I) or salts thereof, wherein R¹ is alkyl, alkenyl, alkynyl, alkoxy, hydroxy, cyano or halogeno; R² is hydrogen, hydroxy or halogeno; R³ is hydrogen, alkyl or amidino; and A is optionally substituted, five- to eleven-membered cyclic amino which may be bridged between any two of the carbon atoms constituting the cyclic amino.</p> | | |

BEST AVAILABLE COPY

(57)要約

次の一般式〔I〕



〔I〕

で表されるイソキノリン誘導体又はその塩を有効成分とする喘息の予防又は治療剤。

式中、 R^1 は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ヒドロキシ、シアノ又はハロゲンを表す。 R^2 は、水素、ヒドロキシ又はハロゲンを表す。 R^3 は、水素、アルキル又はアミジノを表す。環Aは、置換されていてもよい5～11員の環状アミノを表す。かかる環状アミノは、任意の位置の二つの炭素間で架橋していてもよい。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦
AL アルバニア
AM アルメニア
AT オーストリア
AU オーストラリア
AZ アゼルバイジャン
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ
BB バルバドス
BF ベルギー
BG ブルガリア
BH バ레인
BJ ブラジル
BY ベラルーシ
CA カナダ
CF 中央アフリカ
CG コンゴ
CH スイス
CI コートジボアール
CM カメルーン
CN 中国
CR コスタ・リカ
CU キューバ
CY キプロス
CZ チェッコ
DE ドイツ
DK デンマーク

DM ドミニカ
EE エストニア
ES スペイン
FI フィンランド
FR フランス
GA ガボン
GB 英国
GD グレナダ
GE グルジア
GH ガーナ
GM ガンビア
GN ギニア
GW ギニア・ビサウ
GR ギリシャ
HR クロアチア
HU ハンガリー
ID インドネシア
IE アイルランド
IL イスラエル
IN インド
IS アイスランド
IT イタリア
JP 日本
KE ケニア
KG キルギスタン
KP 北朝鮮
KR 韓国

KZ カザフスタン
LC セントルシア
LI リヒテンシュタイン
LK スリ・ランカ
LR リベリア
LS レソト
LT リトアニア
LU ルクセンブルグ
LV ラトヴィア
MA モロッコ
MC モナコ
MD モルドヴァ
MG マダガスカル
MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア
共和国
ML マリ
MN モンゴル
MR モーリタニア
MW マラウイ
MX メキシコ
NE ニジェール
NL オランダ
NO ノルウェー
NZ ニュージーランド
PL ポーランド
PT ポルトガル
RO ルーマニア

RU ロシア
SD スーダン
SE スウェーデン
SG シンガポール
SI スロヴェニア
SK スロヴァキア
SL シエラ・レオネ
SN セネガル
SZ スワジランド
TD チャド
TG トーゴ
TJ タジキスタン
TZ タンザニア
TM トルクメニスタン
TR トルコ
TT トリニダード・トバゴ
UA ウクライナ
UG ウガンダ
US 米国
UZ ウズベキスタン
VN ヴェトナム
YU ユーゴスラヴィア
ZA 南アフリカ共和国
ZW ジンバブエ

明 細 書

医 薬

技 術 分 野

本発明は、イソキノリン誘導体を有効成分とする医薬に関する。

背 景 技 術

気管支喘息は、気道の慢性炎症性疾患で、気道炎症が持続しており、たびたび気道攣縮の発作が起こると考えられている。気管支喘息の主たる病因は、抗原刺激によるⅠ型アレルギー反応であるが、一方、外部刺激（例、感染、運動、煙、冷氣、ストレス）によっても喘息発作は誘発される。気管支喘息には、多くの細胞、特に肥満細胞、好酸球及びＴリンパ球が関与している。薬物治療としては、ステロイド性抗炎症剤、特に吸入ステロイド薬が基本である。これに加えて経口抗アレルギー剤が使用されている。これらの医薬は、気道炎症を抑制することにより、発作を起こりにくくする、予防・維持薬（コントローラー）として用いられている。テオフィリン等の気管支拡張薬（ $\beta 2$ 刺激薬）は、急性発作の治療薬（レリーバー）として使用されている。アミノフィリンの徐放製剤のように長時間作用性の気管支拡張薬は、至適血中濃度維持が容易なことから予防・維持薬として使用されている。

平滑筋収縮を引き起こす神経伝達物質やホルモンは、平滑筋細胞膜上の受容体に結合後、 Ca^{2+} 濃度の上昇と細胞内蛋白質リン酸化酵素の活性化をもたらす、収縮機構を活性化する。

サブスタンスPは、神経ペプチドの中でも最も歴史が古く、平滑

筋収縮活性を有する物質として 1931 年にウマ腸管より単離され、1971 年に 11 個のアミノ酸からなるペプチドとして構造決定された。サブスタンス P は中枢及び末梢の神経系に広く分布しており、末梢から中枢への痛覚伝達物質として機能し、脳内ではドーパミン、アドレナリンの伝達系を調節している。末梢においては、マクロファージやリンパ球の活性化、サイトカイン (IL-1, TNF, IL-6) の調節因子として免疫、炎症にも広く関与している。さらには、気管支喘息への関与も示唆されている。外部刺激によって、平滑筋、毛細管、分泌腺に分布する神経の末端からサブスタンス P やニューロキニン A が放出され、血管透過性の増大、血漿漏出、分泌腺刺激等の炎症症状が引き起こされる。このため、サブスタンス P の活性を阻害すれば、喘息治療に使用できるものと考えられる。

アラキドン酸が哺乳動物において二つの異なる経路、すなわち、シクロオキシゲナーゼとリポキシゲナーゼにより代謝されることが知られている。リポキシゲナーゼ代謝経路により多数のロイコトリエンが生成される。ロイコトリエン類は炎症反応に関与し、化学走行活性を示し、リソソーム酵素の放出を刺激し、即時過敏反応で重要な因子として作用する。例えば、ロイコトリエン D₄ は、ヒトの気管支筋を強く収縮することが知られている。近年、開発されたロイコトリエン C₄・D₄・E₄拮抗剤のプラニルカストや ICI 204, 219 及び MK 571 は、いずれも気管支喘息に対して明らかな臨床的有効性が確認されている。

喘息発作は、気管の平滑筋細胞が異常に収縮することが一因とされる。このため、平滑筋の収縮を抑制する化合物は、喘息の有力な治療剤となりうる。

平滑筋の収縮・弛緩は、細胞内の Ca イオン濃度の増減で調節される。また、筋繊維の Ca イオンに対する感受性の亢進機構も平滑筋の収縮・弛緩を調節する。

低分子量 GTP 結合蛋白の一つである Rho は、種々の細胞膜受容体からシグナルを受けて活性化される。活性化された Rho は、アクチンミオシン系を介して平滑筋収縮、細胞運動、細胞接着、細胞の形態変化、細胞増殖等の多彩な細胞現象の分子スイッチとして機能していることが明らかにされている。したがって、Rho を介する情報伝達経路の下流に存在するとされる Rho キナーゼ (Rho-associated kinase) を阻害することによって、Rho による各種細胞現象の応答を抑制し、Rho が関与する疾患の治療薬になりうると考えられる。

Rho キナーゼは、細胞内情報伝達に働く、Rho により活性化される蛋白質リン酸化酵素である。Rho キナーゼは、細胞内に存在していて、この酵素の働きを活性化すると平滑筋が収縮する。この酵素を特異的に阻害すると、G-蛋白 (グアニンヌクレオチド結合性調節タンパク質) を介した Ca イオン感受性亢進が選択的に阻害され、細胞内 Ca イオン感受性が低下するため、平滑筋は弛緩する。

Rho キナーゼが、細胞内の Ca 濃度に依存しない収縮機構の一つである Ca 感受性亢進機構に選択的に働いていることが明らかになっている [Nature 389(1997): 990-994]。そのため、Rho キナーゼを阻害する化合物は、Ca イオン感受性を低下させることにより効果を発揮する、新しい機序の喘息治療剤や高血圧症治療剤として有望視されている。

また、Rho キナーゼは、平滑筋だけでなく、がん細胞にも存在す

るとされ、活性化することでストレスファイバー、接着分子を活性化するとされる。このため、Rho キナーゼを阻害すれば、細胞運動を制御でき、自己免疫疾患治療剤として又はがん細胞転移抑制剤として使用できる可能性もある。

前記の文献 [Nature 389(1997): 990-994] に、Y-27632 [(R)-(+)-トランス-N-(4-ピリジル)-4-(1-アミノエチル)シクロヘキサシカルボキサミド] 及び一般式 [I] の化合物に類似した構造を有する塩酸ファスジル (ヘキサヒドロ-1-(5-イソキノリンスルホニル)-1H-1,4-ジアゼピン塩酸塩) が、Rho キナーゼを特異的に阻害して、Ca イオン感受性亢進を阻害することによって平滑筋収縮を選択的に抑制することが報告されている。さらに国際公開公報 WO 98/06433 号にも同様のことが開示されている。

塩酸ファスジルを含む、イソキノリン骨格の 5 位が環状アミノスルホニルで置換されている化合物は、循環器官用剤として有用であることが知られている (特開昭 57-156463 号公報、特開昭 58-121276 号公報、特開昭 61-227581 号公報など参照)。

また、国際公開公報 WO 97/28130 号にイソキノリン骨格の 5 位が環状アミノスルホニルで置換されていて、且つ、4 位に置換基を有する、後記する一般式 [I] のイソキノリン誘導体が、細胞壊死抑制作用を有することが開示されている。

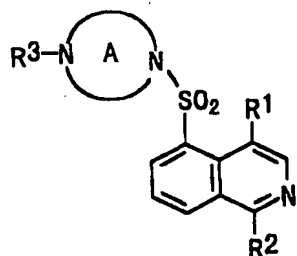
一般式 [I] のイソキノリン誘導体がサブスタンス P 拮抗作用、ロイコトリエン D₄ 拮抗作用、Rho キナーゼ阻害作用を有し、平滑筋弛緩作用を有すること並びに喘息の予防又は治療剤として有用なことは、上記の文献や特許公報に開示されていないし、示唆もされていない。

発 明 の 開 示

本発明の目的は、新規な喘息の予防又は治療剤を提供することにある。

本発明者らは、上記目的を達成するために、種々の化合物について探索する過程において下記的一般式〔I〕で表されるイソキノリン誘導体が、優れたサブスタンスP拮抗作用、ロイコトリエンD₄拮抗作用、Rhoキナーゼ阻害作用及び平滑筋弛緩作用を有し、喘息の予防又は治療に有用なことを見だし、本発明を完成した。

従って、本発明は、次の一般式〔I〕



〔I〕

(式中、R¹は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ヒドロキシ、シアノ又はハロゲンを表す。R²は、水素、ヒドロキシ又はハロゲンを表す。R³は、水素、アルキル又はアミノを表す。環Aは、置換されていてもよい5～11員の環状アミノを表す。かかる環状アミノは、任意の位置の二つの炭素間で架橋していてもよい。)で表されるイソキノリン誘導体又はその塩を有効成分として含有する喘息予防又は治療剤、平滑筋弛緩剤、抗アレルギー剤、サブスタンスP拮抗剤、ロイコトリエンD₄拮抗剤及びRhoキナーゼ阻害剤に関する。

本発明の特徴は、イソキノリン骨格の4位が、アルキル、アルケ

ニル、アルキニル、アルコキシ、ヒドロキシ、シアノ及びハロゲンからなる群から選択された置換基により置換されているイソキノリン誘導体に、前述の塩酸ファスジルについて知られていなかったロイコトリエンD₄拮抗作用、サブスタンスP拮抗作用及びRhoキナーゼ阻害作用を併せ持っていること、及び気管支平滑筋の収縮を抑制し、喘息の予防又は治療剤として有用であることを見出した点にある。

以下に、本発明を詳述する。

本発明における「喘息の予防又は治療剤」は、コントローラー若しくはレリーバーとしての作用、又は両者の作用を併わせ持ち、喘息の予防又は治療に有用な薬物を言う。

「平滑筋弛緩剤」は、平滑筋の異常収縮を抑制する薬物を言う。

「抗アレルギー剤」は、I型、II型、III型、又はIV型のアレルギー反応を抑制する薬物を言う。

「サブスタンスP拮抗剤」は、サブスタンスPの活性により誘発される障害を抑制することにより、サブスタンスPに起因する諸疾患の症状を改善するのに有効な薬物を言う。

「ロイコトリエンD₄拮抗剤」は、ロイコトリエンD₄の活性により誘発される障害を抑制することにより、ロイコトリエンD₄に起因する諸疾患の症状を改善するのに有効な薬物を言う。

「Rhoキナーゼ阻害剤」は、Rhoキナーゼが関与する生理学的障害や疾患（例えば、喘息、末梢循環障害、網膜症、高血圧症、炎症、免疫疾患、自己免疫疾患、癌、AIDS、細菌の消化管感染、動脈硬化症、骨粗鬆症、脳機能障害の病的疾患、受精及び受精卵の着床といった生物学的現象）の予防又は治療薬を言う。

本発明における「アルキル」としては、直鎖状又は分枝鎖状の炭素数 1 ～ 6 のもの、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、n-ヘキシル、イソヘキシルを挙げることができる。なかでも炭素数 1 ～ 4 のアルキルが好ましく、特にメチルが好ましい。

「アルケニル」としては、直鎖状又は分枝鎖状の炭素数 2 ～ 6 のもの、例えば、ビニル、アリル、イソプロペニル、2-メタリル、2-ブテニル、3-ブテニルを挙げることができる。なかでも炭素数 2 ～ 4 のアルケニルが好ましい。

「アルキニル」としては、直鎖状又は分枝鎖状の炭素数 2 ～ 6 のもの、例えば、エチニル、1-プロピニル、2-プロピニル、1-ブチニル、2-ブチニル、3-ブチニル、3-メチル-2-ブチニルを挙げることができる。なかでも炭素数 2 ～ 4 のアルキニルが好ましい。

「アルコキシ」としては、直鎖状又は分枝鎖状の炭素数 1 ～ 4 のもの、例えば、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、イソプロポキシ、n-ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシを挙げることができる。

「ハロゲン」としては、塩素、フッ素、臭素、ヨウ素を挙げることができる。なかでもフッ素が好ましい。

「環 A」としては、環構成のヘテロ原子として窒素原子を 2 個含む、飽和の 5 ～ 11 員の単環又は架橋したものを挙げることができる。例えば、1-イミダゾリジニル、ピペラジノ、ヘキサヒドロ-1H-1,4-ジアゼピン-1-イル、1,5-ジアザシクロオクタン-1-イル、3,6-ジアザビシクロ [3.2.2] ノナン-3-イル、3,6-ジアザビシクロ

[3.2.1] オクタン-3-イル、2,5-ジアザビシクロ [2.2.1] ヘプタン-2-イル、又は 2,5-ジアザビシクロ [2.2.2] オクタン-2-イルを挙げることができる。かかる環 A は任意の位置に同一又は異なる 1~4 個の、アルキル、ハロゲン、フェニル及びアミノアルキルからなる群から選択される置換基を有していてもよい。かかるアミノアルキルのアルキル部分は、前記したアルキルを挙げることができる。

R¹ としては、炭素数 1~4 のアルキル及びハロゲンが好ましく、特にメチル及びフッ素が好ましい。R²、R³ としては、水素が好ましい。環 A としては、ヘキサヒドロ-1H-1,4-ジアゼピン-1-イルが好ましく、なかでも 2-又は 7-メチル-ヘキサヒドロ-1H-1,4-ジアゼピン-1-イルがより好ましい。

一般式 [I] のイソキノリン誘導体の塩としては、例えば、塩酸、硫酸、硝酸、リン酸、フッ化水素酸、臭化水素酸等の無機酸の塩又は酢酸、酒石酸、乳酸、クエン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸、カンファースルホン酸等の有機酸の塩を挙げることができる。

一般式 [I] のイソキノリン誘導体には、不斉炭素を有し、光学異性体が存在するものもある。これらの各異性体及びこれらの混合物のいずれも本発明に包含される。

一般式 [I] のイソキノリン誘導体は、例えば、国際公開公報 WO 97/28130 号に記載された方法に従って製造することができる。

一般式 [I] のイソキノリン誘導体は、ロイコトリエン D₄ 拮抗作用、サブスタンス P 拮抗作用、Rho キナーゼ阻害作用を併有し、

平滑筋細胞の異常収縮を阻害するので、気管支喘息の予防又は治療剤として有用である。

一般式〔I〕のイソキノリン誘導体を医薬として投与する場合、一般式〔I〕のイソキノリン誘導体をそのまま又は医薬的に許容される無毒性かつ不活性の担体中に、例えば、0.1%～99.5%、好ましくは0.5%～90%含有する医薬組成物として、人を含む哺乳動物に投与される。

担体としては、固形、半固形、又は液状の希釈剤、充填剤、及びその他の処方用の助剤一種以上が用いられる。医薬組成物は、投与単位形態で投与することが望ましい。本発明医薬組成物は、経口投与、組織内投与、局所投与（経皮投与等）又は経直腸的に投与することができる。これらの投与方法に適した剤型で投与されるのはもちろんである。中でも、経口投与又は吸入投与が好ましい。

喘息若しくはその他の疾患の予防又は治療剤としての用量は、年齢、体重等の患者の状態、投与経路、病気の性質と程度等を考慮した上で調整することが望ましいが、通常は、成人に対して本発明の有効成分量として、経口投与の場合、1日あたり、1～1,000mg/成人の範囲、好ましくは、10～100 mg/成人の範囲である。吸入投与の場合、1日あたり、0.1～100mg/成人の範囲、好ましくは、1～30mg/成人の範囲である。場合によっては、これ以下でも足りるし、また逆にこれ以上の用量を必要とすることもある。また1日2～3回に分割して投与することもできる。

経口投与は固形又は液状の用量単位、例えば、末剤、散剤、錠剤、糖衣剤、カプセル剤、顆粒剤、懸濁剤、液剤、シロップ剤、ドロップ剤、舌下錠その他の剤型によって行うことができる。

末剤は一般式〔I〕の化合物を適当な細かさにより製造される。散剤は一般式〔I〕の化合物を適当な細かさとし、ついで同様に細かくした医薬用担体、例えば、澱粉、マンニトールのような可食性炭水化物その他と混合することにより製造される。必要に応じ風味剤、保存剤、分散剤、着色剤、香料その他のものを混じてもよい。

カプセル剤は、まず上述のようにして粉末状となった末剤や散剤あるいは錠剤の項で述べるように顆粒化したものを、例えば、ゼラチンカプセルのようなカプセル外皮の中へ充填することにより製造される。滑沢剤や流動化剤、例えば、コロイド状のシリカ、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、固形のポリエチレングリコールのようなものを粉末状態のものに混合し、然るのちに充填操作を行うこともできる。崩壊剤や可溶化剤、例えば、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターチナトリウム、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、を添加すれば、カプセル剤が摂取されたときの医薬の有効性を改善することができる。

また、一般式〔I〕の化合物の微粉末を植物油、ポリエチレングリコール、グリセリン、界面活性剤中に懸濁分散し、これをゼラチンシートで包んで軟カプセル剤とすることができる。錠剤は賦形剤を加えて粉末混合物を作り、顆粒化もしくはスラグ化し、ついで崩壊剤又は滑沢剤を加えたのち打錠することにより製造される。粉末混合物は、適当に粉末化された物質を上述の希釈剤やベースと混合し、必要に応じ結合剤（例えば、カルボキシメチルセルロースナト

リウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール)、溶解遅延化剤(例えば、パラフィン)、再吸収剤(例えば、四級塩)や吸着剤(例えば、ベントナイト、カオリン、リン酸ジカルシウム)をも併用してもよい。粉末混合物は、まず結合剤、例えば、シロップ、澱粉糊、アラビアゴム、セルロース溶液又は高分子物質溶液で湿らせ、攪拌混合し、これを乾燥、粉碎して顆粒とすることができる。このように粉末を顆粒化するかわりに、まず打錠機にかけたのち、得られる不完全な形態のスラグを破碎して顆粒にすることも可能である。このようにして作られる顆粒は、滑沢剤としてステアリン酸、ステアリン酸塩、タルク、ミネラルオイルその他を添加することにより、互いに付着することを防ぐことができる。このように滑沢化された混合物をついで打錠する。こうして製造した素錠にフィルムコーティングや糖衣を施すことができる。

また一般式〔I〕の化合物は、上述のように顆粒化やスラグ化の工程を経ることなく、流動性の不活性担体と混合したのちに直接打錠してもよい。シェラックの密閉被膜からなる透明又は半透明の保護被覆、糖や高分子材料の被覆、及び、ワックスよりなる磨上被覆の如きも用いる。他の経口投与剤型、例えば、溶液、シロップ、エリキシルなどもまたその一定量が薬物の一定量を含有するように用量単位形態にすることができる。シロップは、一般式〔I〕の化合物を適当な香味水溶液に溶解して製造され、またエリキシルは非毒性のアルコール性担体を用いることにより製造される。懸濁剤は、一般式〔I〕の化合物を非毒性担体中に分散させることにより処方される。可溶化剤や乳化剤(例えば、エトキシ化されたイソステア

リルアルコール類、ポリオキシエチレンソルビトールエステル類)、保存剤、風味賦与剤(例えば、ペパメント油、サッカリン)その他もまた必要に応じ添加することができる。

必要とあらば、経口投与のための用量単位処方、マイクロカプセル化してもよい。該処方はまた被覆をしたり、高分子・ワックス等中に埋め込んだりすることにより作用時間の延長や持続放出をもたらすこともできる。

非経口投与として吸入剤、注射剤、坐剤等を用いることができる。皮下・筋肉又は静脈内注射用とした液状用量単位形態、例えば、溶液や懸濁剤の形態を用いることによって行うことができる。これらのものは、本化合物の一定量を、注射の目的に適合する非毒性の液状担体、例えば、水性や油性の媒体に懸濁し又は溶解し、次いで該懸濁液又は溶液を滅菌することにより製造される。注射液を等張にするために非毒性の塩や塩溶液を添加してもよい。更に安定剤、保存剤、乳化剤等を併用することもできる。

直腸投与は、一般式〔I〕の化合物を低融点の、水に可溶又は不溶の固体、例えば、ポリエチレングリコール、カカオ脂、半合成の油脂(例えば、ウイテプゾール、登録商標)、高級エステル類(例えばパルミチン酸ミリスチルエステル)及びそれらの混合物に溶解又は懸濁させて製造した坐剤を用いることによって行うことができる。

発明を実施するための最良の形態

本発明に係るイソキノリン誘導体の代表化合物について試験例及び製剤例を掲げて、本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれ

らに限定されるものではない。

試験には、被験薬物としてヘキサヒドロ-7-メチル-1-(4-メチル-5-イソキノリンスルホニル)-1H-1,4-ジアゼピン塩酸塩(化合物1)、(S)-(-)-ヘキサヒドロ-7-メチル-1-(4-メチル-5-イソキノリンスルホニル)-1H-1,4-ジアゼピン塩酸塩(化合物2)、ヘキサヒドロ-2-メチル-1-(4-メチル-5-イソキノリンスルホニル)-1H-1,4-ジアゼピン塩酸塩(化合物3)、(S)-(+)-ヘキサヒドロ-2-メチル-1-(4-メチル-5-イソキノリンスルホニル)-1H-1,4-ジアゼピン塩酸塩(化合物4)、(R)-(-)-ヘキサヒドロ-2-メチル-1-(4-メチル-5-イソキノリンスルホニル)-1H-1,4-ジアゼピン塩酸塩(化合物5)及び(S)-(-)-ヘキサヒドロ-1-(4-フルオロ-5-イソキノリンスルホニル)-2-メチル-1H-1,4-ジアゼピン塩酸塩(化合物6)を用いた。対照化合物として、塩酸ファスジル(ヘキサヒドロ-1-(5-イソキノリンスルホニル)-1H-1,4-ジアゼピン塩酸塩)を用いた。

試験例1

モルモット摘出回腸標本のサブスタンスP誘発収縮に対する作用

Holzer らの方法(Eur. J. Pharmacol. 91, 83~88(1983))に準じて試験した。

モルモットより回腸を摘出し、切片標本を作製した。この標本を Krebs 液(32 °C, 95%O₂+5%CO₂, pH 7.4)を充たしたマグヌス槽に1gの負荷を加えて懸垂し、標本の収縮を記録した。Krebs 液にはアトロピン(0.35 µM)を共存させた。まず、サブスタンスP(3 nM)による収縮を記録した後に、標本を十分に洗浄した。被験薬の存在下に再びサブスタンスP(3 nM)を注入し、被験薬非存在下のサブスタン

スP収縮と比較した。その結果、化合物6は30 μ Mで100%の阻害作用を示した。

試験例2

モルモット摘出回腸標本のロイコトリエンD₄誘発収縮に対する作用

Holroydeらの方法(Eur. J. Pharmacol. 1983, 90, 251 ~ 255)に準じて試験した。

モルモットより回腸を摘出し、切片標本を作製した。標本をKrebs液(32℃, 95%O₂+5%CO₂, pH 7.4)を充たしたマグナス槽に1gの負荷を加えて懸垂し、標本の収縮を記録した。まず、ロイコトリエンD₄(0.01 μ M)による収縮を記録した後に、標本を十分に洗浄した。

被験薬の存在下に再びロイコトリエンD₄(0.01 μ M)を注入し、被験薬非存在下のロイコトリエンD₄収縮と比較した。その結果、化合物6は30 μ Mで98%の阻害作用を示した。

試験例3

Rhoキナーゼ阻害作用

1. GST-RhoK-cat (グルタチオン-S-トランスフェラーゼ遺伝子とRhoキナーゼ遺伝子の触媒部位を結合させたもの)の調製

SF-9細胞(昆虫由来の細胞)を3日間培養した後、GST-RhoK-cat遺伝子を導入したバキュロウイルスを感染させた。感染60時間後の細胞を超音波処理後、遠心(100,000g×1hr)して得られた上清をグルタチオン-セファロースカラムに吸着させた。カラムを洗浄後、グルタチオンを含むバッファーで溶出した。溶出液を用いてアッセイした。

2. キナーゼ (kinase) アッセイ

アッセイ系の組成は、次の通りである。

Tris-HCl (pH=7.5) 50mM、MgCl₂ 5mM、EDTA 1mM、EGTA 1mM、DTT 1mM、基質(S6-ペプチド) 40 μM、GST-RhoK-cat 26pg、hot ATP 100 μM (0.2 μCi)。

3. プロトコール

溶出液より基質とATPを除いて、反応液を調整した。基質と放射性ATPを系に添加して30℃で10分間反応した。P81フィルター(Whatman製)に反応液をスポットし、75mMリン酸液で洗浄した後、放射活性を測定した。その結果を表1に示した。

表 1

化合物 Rho キナーゼ に対する 50% 阻止濃度
(IC₅₀: μM)

| | |
|-------|-------|
| 化合物 1 | 0.15 |
| 化合物 2 | 0.05 |
| 化合物 3 | 0.08 |
| 化合物 4 | 0.015 |
| 化合物 5 | 0.10 |
| 化合物 6 | 0.2 |
| 対照化合物 | 1.5 |

表1からも明らかなように、一般式〔I〕のイソキノリン誘導体の Rho キナーゼ 阻害活性は、対照化合物の塩酸フェスジルに比べて 7.5～100 倍とはるかに強かった。しかも、その活性は、プロ

テインキナーゼ A (PKA)、プロテインキナーゼ C (PKC)、ミオシン軽鎖キナーゼ (MLCK) に対する阻害活性よりもはるかに強く、選択性が優れていた。一方、塩酸ファスジルはこれらのキナーゼに対して選択性を示さなかった。

試験例 4

モルモット摘出気管標本に対する作用

Wasserman らの方法 (Eur. J. Pharmacol. 1977, 46, 303-313) に準じて試験した。

モルモットより気管を摘出し、切片標本を作製した。標本を Krebs 液 (37℃, 95%O₂+5%CO₂, pH 7.4) を充たしたマグヌス槽に 1g の負荷を加えて懸垂し、標本の発生張力を記録した。標本の張力が安定した後に、被験薬 (30 μM) をマグヌス槽に注入した。1.6 μM のエピネフリンによる弛緩を 100% として被験薬の弛緩作用を検討した。その結果、化合物 6 は 30 μM で 94 % の弛緩作用を示した。

以上の試験例から明らかなように、一般式 [I] のイソキノリン誘導体は、サブスタンス P 誘発収縮抑制作用、ロイコトリエン D₄ 誘発収縮抑制作用、細胞内 Rho キナーゼ阻害作用を示した。また、気管支平滑筋の収縮を抑制した。

製剤例 1

処方 (1錠 180mg 中)

| | |
|---------------------|-------|
| 化合物 2 | 10mg |
| 乳糖 | 100mg |
| トウモロコシ澱粉 | 55mg |
| 低置換度ヒドロキシプロピルセルロース | 9mg |
| ポリビニルアルコール (部分ケン化物) | 5mg |

| | |
|--------------|-------|
| ステアリン酸マグネシウム | 1mg |
| | 180mg |

調製法

ポリビニルアルコール及びステアリン酸マグネシウムを除く上記成分を均一に混合した後、ポリビニルアルコール水溶液を結合剤として湿式造粒法にて打錠用顆粒を製造する。これにステアリン酸マグネシウムを混合した後に、打錠機を用いて1錠重量180mgに成形し内服錠とする。

製剤例 2

処方(1カプセル 220mg 中)

| | |
|--------------|-------|
| 化合物 4 | 10mg |
| 乳糖 | 187mg |
| 微結晶セルロース | 20mg |
| ステアリン酸マグネシウム | 3mg |
| | 220mg |

調製法

上記成分を均一に混合した後、カプセル充填機で硬カプセルに220mgを充填し、硬カプセル剤とする。

製剤例 3

処方(顆粒 1g 中)

| | |
|--------------------|--------|
| 化合物 6 | 10mg |
| 乳糖 | 880mg |
| 低置換度ヒドロキシプロピルセルロース | 70mg |
| ヒドロキシプロピルセルロース | 40mg |
| | 1000mg |

調製法

ヒドロキシプロピルセルロースを除く上記成分を均一に混合した後、ヒドロキシプロピルセルロース水溶液結合剤として練合した後、造粒機にて造粒し、顆粒剤とする。

産業上の利用可能性

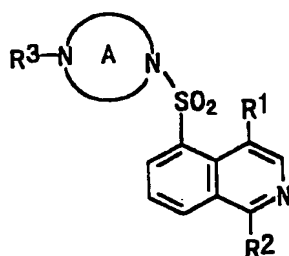
以上のように、一般式〔I〕のイソキノリン誘導体は、サブスタンスP誘発収縮阻害作用、ロイコトリエンD₄拮抗作用、Rhoキナーゼ阻害作用を有し、また、気管支平滑筋の収縮抑制作用を示した。これらの作用を合わせ持つことより、一般式〔I〕のイソキノリン誘導体は、有利な喘息の予防又は治療剤となる。

また、一般式〔I〕のイソキノリン誘導体は、血管平滑筋の収縮を阻害するので、悪性又は重篤な高血圧の治療に血圧降下剤として有用である。また、微小循環を改善するので、緑内障治療剤としても有用である。

さらに、優れた選択的なRhoキナーゼ阻害作用を有することにより、ストレスファイバー、接着分子の活性化を抑制し、がん細胞の運動を制御でき、がん細胞転移抑制剤として、又は自己免疫疾患に使用できる可能性もある。

請 求 の 範 囲

1. 次の一般式 [I]



[I]

(式中、R¹は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ヒドロキシ、シアノ又はハロゲンを表す。R²は、水素、ヒドロキシ又はハロゲンを表す。R³は、水素、アルキル又はアミノを表す。環Aは、置換されていてもよい5～11員の環状アミノを表す。かかる環状アミノは、任意の位置の二つの炭素間で架橋していてもよい)で表されるイソキノリン誘導体又はその塩を有効成分として含有する喘息予防又は治療剤。

2. 請求の範囲第1項記載のイソキノリン誘導体又はその塩を有効成分とする平滑筋弛緩剤。

3. 請求の範囲第1項記載のイソキノリン誘導体又はその塩を有効成分とする抗アレルギー剤。

4. 請求の範囲第1項記載のイソキノリン誘導体又はその塩を有効成分とするサブスタンスP拮抗剤。

5. 請求の範囲第1項記載のイソキノリン誘導体又はその塩を有効成分とするロイコトリエンD₄拮抗剤。

6. 請求の範囲第1項記載のイソキノリン誘導体又はその塩を有効成分とするRhoキナーゼ阻害剤。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP99/03137

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ A61K31/55 // C07D401/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ A61K31/55, C07D401/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA, REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| Y | WO, 97/28130, A1 (Nippon Shinyaku Co., Ltd.), 7 August, 1997 (07. 08. 97), Full text & EP, 885888, A1 & AU, 9715574, A & CN, 1210521, A | 1-6 |
| Y | JP, 7-149646, A (Asahi Chemical Industry Co., Ltd.), 13 June, 1995 (13. 06. 95), Full text (Family: none) | 1-6 |
| Y | JP, 7-41424, A (Asahi Chemical Industry Co., Ltd.), 10 February, 1995 (10. 02. 95), Full text (Family: none) | 1-6 |
| Y | JP, 4-264030, A (Asahi Chemical Industry Co., Ltd.), 18 September, 1992 (18. 09. 92), Full text (Family: none) | 1-6 |
| P, X | JP, 10-310576, A (Hiroyoshi Hidaka), 24 November, 1998 (24. 11. 98), Full text (Family: none) | 6 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

| | |
|---|--|
| * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family |
|---|--|

Date of the actual completion of the international search
20 September, 1999 (20. 09. 99)

Date of mailing of the international search report
28 September, 1999 (28. 09. 99)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int.Cl⁸ A61K31/55 // C07D401/12

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁸ A61K31/55, C07D401/12

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
CA, REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|------------------|
| Y | WO, 97/28130, A1 (日本新薬株式会社), 7. 8月. 1997 (07. 08. 97) 全文 & EP, 885888, A1 & AU, 9715574, A & CN, 1210521, A | 1-6 |
| Y | JP, 7-149646, A (旭化成工業株式会社), 13. 6 月. 1995 (13. 06. 95), 全文 (ファミリーなし) | 1-6 |
| Y | JP, 7-41424, A (旭化成工業株式会社), 10. 2月. 1995 (10. 02. 95), 全文 (ファミリーなし) | 1-6 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

20. 09. 99

国際調査報告の発送日

28.09.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

富永 保

4 P

9159

電話番号 03-3581-1101 内線 3490

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|---|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| Y | J P, 4-264030, A (旭化成工業株式会社), 18. 9 月. 1992 (18. 09. 92), 全文 (ファミリーなし) | 1-6 |
| P, X | J P, 10-310576, A (日高弘義), 24. 11月. 19 98 (24. 11. 98), 全文 (ファミリーなし) | 6 |

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record.**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.